

Kertas dan karton - Cara uji ketahanan terhadap jamur

Fungus resistance of paper and paperboard

(T 487 pm-99, MOD)



© BSN 2010

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	iii
1 Pendahuluan.....	1
2 Ruang lingkup.....	1
3 Pengertian	1
4 Alat dan bahan.....	3
5 Sterilisasi peralatan dan medium.....	7
6 Organisme uji.....	7
7 Penyiapan inokulum	7
8 Pengambilan contoh dan contoh uji.....	9
9 Prosedur uji.....	11
10 Inkubasi	11
11 Laporan hasil uji.....	11
12 Ketelitian	13
13 Kata Kunci	13
Lampiran A (informatif) Daftar deviasi teknis dan penjelasannya.....	15
Bibliografi	16

Contents

Contents.....	ii
1 Introduction	2
2 Scope	2
3 Significance.....	2
4 Apparatus and materials	4
5 Sterilization of equipment and media	8
6 Test organisms	8
7 Preparation of inoculum	8
8 Sampling and test specimens	10
9 Test procedure	12
10 Incubation	12
11 Report	12
12 Precision	14
13 Keywords	14
Appendix A (informative) List the technical deviation and its clarification	16
Bibliography	18

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) Kertas dan karton - Cara uji ketahanan terhadap jamur merupakan revisi dari SNI 14-1558-1988, Cara uji ketahanan kertas dan karton terhadap jamur. SNI ini merupakan terjemahan secara modifikasi dari TAPPI 487 pm-99, *Fungus resistance of paper and paperboard*, dengan beberapa modifikasi teknis.

Dalam standar ini, telah dilakukan modifikasi tertentu, yaitu adanya penambahan jumlah agar ke dalam medium dan penghilangan kode spesifik jamur yang digunakan untuk menyesuaikan dengan spesies jamur di Indonesia. Penyimpangan teknis dan informasi tambahan telah ditambahkan secara langsung kedalam pasal yang diacu, dan diberi tanda dengan jenis huruf dan judul "penyimpangan nasional" atau "penjelasan nasional" yang berbeda.

Untuk tujuan ini, telah dilakukan perubahan editorial berikut:

- a) tanda koma telah diganti dengan tanda titik,
- b) Daftar penyimpangan teknis dan penjelasannya telah dimasukkan untuk memberi petunjuk bagi pengguna.

SNI ini disusun sesuai dengan ketentuan yang diberikan dalam Pedoman Nasional PSN 03.1, Adopsi Standar Internasional dan Publikasi Internasional lainnya Bagian 1: Adopsi Standar Internasional menjadi SNI (ISO/IEC Guide 21-1:2005, *Regional or national adoption of International Standards and other International Deliverables – Part 1: Adoption of International Standards*, MOD).

SNI ini juga disusun sesuai dengan ketentuan yang diberikan dalam Pedoman Badan Standardisasi Nasional (PSN) 08:2007, *Penulisan SNI*.

Standar ini disusun oleh Panitia Teknis Perumus SNI 85-01, Teknologi Kertas dan telah dibahas dalam rapat konsensus lingkup Panitia Teknis di Bandung pada 20 Agustus 2008. Hadir dalam rapat tersebut wakil dari pemerintah, produsen, konsumen, tenaga ahli, Asosiasi Pulp dan Kertas Indonesia dan institusi terkait lainnya. SNI ini juga telah melalui konsensus nasional yaitu pemungutan suara (voting) pada tanggal 28 Oktober s.d 28 Desember 2009 dan langsung disetujui menjadi Rancangan Akhir SNI (RASNI) untuk ditetapkan menjadi SNI.

Forewords

The National Indonesian Standard (SNI) *Fungus resistance of paper and paperboard* is revised from SNI 14-1558-1998, *Determination of fungus resistance of paper and board*. This SNI is a modified adoption from TAPPI 487 pm-99, *Fungus resistance of paper and paperboard*, by a few technical modification.

In this standard, a certain modification have been done, that is existence of addition agar sum into medium and specific code erasion, head for to adaptation to the available fungi species and collected by some Microbiological laboratory in Indonesia. Technical deviation and supplementary information have been enhanced directly into each section, and give a mark with the type of letter and title " national deviation" or " national clarification" is different.

For this purpose, the following editorial changes have been made:

- a) Dot mark has been changed by comma and vice versa for the number writing.
- b) Some terminology of *International Standard* has been changed by *National Standard* and translated to be national standard.

This SNI is drafted in accordance with the rules given in the National Standardization Guide PSN 03.1, *Adoption of International Standards and Other International Deliverables – Part 1 : Adoption of International Standards into SNIs* (ISO/IEC Guide 21-1:2005, *Regional or national adoption of International Standards and other International Derivables – Part 1: Adoption of International Standards, MOD*).

This SNI is also drafted in accordance with the rules given in National Standardization Guide PSN 08:2007, *SNI Writing*.

This SNI was prepared by Technical Committee 85-01, Paper Technology and has been discussed in a consensus meeting for Technical Committees in Bandung on August 20th, 2008. The meeting was attended by representatives from government, producer, consumer, scientist, Association of Pulp and Paper Indonesia, and related institutions. This SNI has passed national concensus which is e-balloting conducted from October, 28 until December, 28, 2009.

Kertas dan karton - Cara uji ketahanan terhadap jamur

1 Pendahuluan

Cara uji ini digunakan untuk menentukan ketahanan kertas dan karton terhadap pertumbuhan jamur. Lembaran kertas diinokulasi dengan jamur dan diamati apakah lembaran kertas dapat menghambat pertumbuhan jamur selama periode 21 hari.

2 Ruang lingkup

Cara uji ini dikenal industri untuk mengetahui efektivitas pemberian anti jamur pada kertas atau karton. Cara uji ini bukan untuk menghitung koloni jamur pada stok seperti yang dijelaskan pada metode TAPPI T 631 om-89 "*Microbiological Examination of Process Water and Slush Pulp*".

Cara uji ini disesuaikan dengan kontaminasi jamur yang telah terjadi pada kertas. Sangat sulit untuk membedakan antara jenis jamur yang digunakan untuk uji ketahanan terhadap jamur dengan jamur kontaminan yang biasa terdapat pada kertas. Oleh sebab itu, sangat baik menerapkan metode uji TAPPI T 631 om-89 untuk mengkonfirmasi tidak adanya kontaminasi jamur pada stok kertas.

Secara alami jamur banyak ditemukan di udara, sehingga contoh uji kertas dan karton harus dilakukan penanganan secara hati-hati sebelum dilakukan pengujian. Lihat bagian pengambilan contoh dan contoh uji pada pasal 8.

3 Pengertian

Cara uji ini menyediakan metode standar untuk mengklasifikasikan kertas atau karton berdasarkan ketahanannya terhadap jamur. Pengklasifikasian ini penting untuk mengetahui kualitas kertas yang berada pada lingkungan dengan kelembaban tinggi sebagai produk akhir. Sebagai contoh, kualitas kertas pembungkus sabun dan kertas pelapis lantai sering digunakan sebagai bahan uji. Cara uji ini dapat juga digunakan untuk mengetahui berapa lama lembaran kertas yang digunakan untuk pengiriman barang dapat tahan terhadap pertumbuhan jamur.

Karena pada uji ini menggunakan organisme uji yang spesifik, maka uji ini bersifat subjektif. Uji ini tidak menjamin bahwa lembaran kertas akan tahan terhadap semua jenis jamur yang mungkin bersinggungan. Selain itu, uji ini dilakukan pada kondisi laboratorium yang terkendali, sehingga hasilnya dapat berbeda dengan kondisi yang sebenarnya. Hal ini sangat penting ketika lembaran disimpan di tempat yang luas, terbuka atau dikirim dalam kargo untuk jarak yang jauh, dimana kondisi pertumbuhan jamur lebih bervariasi.

Fungus resistance of paper and paperboard

1 Introduction

This test is used to determine the resistance of paper and paperboard to fungal (mold) growth. The sheet is brought into contact with fungal species and then monitored to determine if the sheet can inhibit the growth of the species for a period of 21 days.

2 Scope

This is an industry recognized test for determining the effectiveness of a mold-proofing treatment on/in the paper or paperboard. The test should not be used to enumerate fungal colonies in stock as described in method TAPPI T 631 om-89 "Microbiological Examination of Process Water and Slush Pulp."

This test can be compromised by the fungal contamination already present in the paper. It is difficult to differentiate between the fungal species being used to test for mold-proofing properties and a contaminant already present in the sheet. Therefore, it is good practice to run test method TAPPI T 631 om-89 on the paper stock in order to confirm the absence of fungal contamination.

Fungal species are naturally airborne which means the paper and paperboard being tested should be handled carefully before running the test. See the Sampling and test specimens in section 8.

3 Significance

This test method provides a standard method for classifying in which paper or paperboard is classified as fungus resistant or mold-proofed. This rating is important for grades of paper that will be subjected to high moisture levels as end products. For example, soap wrap and flooring grades are often subjected to this test. The test can also be used to determine how long a sheet will withstand fungal growth for shipping purposes.

Because the test involves specific living organisms it can be subjective. It does not guarantee that a sheet will be resistant to all fungal species that it may contact. Also, because this test is run under controlled laboratory conditions it does not account for the exact conditions a sheet may normally need to withstand. This is especially important when a sheet is stored in a large, open warehouse or shipped in cargo areas for long distances, where fungal growth conditions may be more prevalent.

4 Alat dan bahan

4.1 Botol untuk inokulum

Beberapa botol gelas berukuran 250 mL dengan mulut lebar, bentuk kotak dengan tutup berulir untuk air blanko. Botol standar pengencer susu ukuran 99 mL sangat direkomendasikan. Walaupun air blanko steril tersedia secara komersial, dapat juga disiapkan sebagai berikut : Pada setiap tabung steril diisi beberapa bola-bola kaca berukuran 13 mm, 100 mL air dan 3 - 4 tetes bahan pembasah¹ yang sesuai kemudian lakukan sterilisasi.

4.2 Penutup

Kapas lemak atau penutup tabung lainnya.

4.3 Peralatan untuk membakar

Tergantung dari kondisi, labu alkohol atau pembakar Bunsen dapat digunakan untuk membakar jarum inokulasi dan mulut tabung steril.

4.4 Kontainer

Beberapa labu erlenmeyer ukuran 250 mL atau botol-botol untuk sterilisasi medium, tabung Mason 974 mL.

4.5 Inkubator

Mampu mempertahankan suhu $(28 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ untuk inkubasi inokulum dan contoh uji yang telah diinokulasi.

4.6 Jarum inokulasi steril

Dapat berupa jarum sekali buang atau jarum inokulasi standar yang dilengkapi dengan kawat platina atau nikel-kromium berukuran 22 atau 24.

4.7 Tabung reaksi

Ukuran 18 mm x 150 mm untuk pertumbuhan organisme uji.

4.8 Media nutrisi. Dua jenis media yang diperlukan:

4.8.1 Medium padat dekstrosa kentang (PDA)

Medium ini digunakan untuk memelihara organisme uji pada kultur murni dan untuk pertumbuhan organisme uji untuk inokulum. Medium standar ini tersedia secara komersial (pH medium $5,6 \pm 0,2$).

¹Nama-nama penyalur dari peralatan pengujian dan bahan untuk metode ini dapat ditemukan pada *Test Equipment Suppliers* di Metode Uji TAPPI, atau dapat tersedia dari TAPPI *Technical Operations Department*

4 Apparatus and materials

4.1 Bottles for inoculum

Several 250 mL, narrow- or wide- mouthed, square-sectional glass bottles fitted with screw caps are used for water blanks. Standard milk-dilution bottles scribed at the 99-mL level are recommended. However, commercially available, sterile, water blanks can also be used. The blanks are prepared as follows: to each bottle add several glass beads approximately 13 mm in size, 100 mL of water and 3 or 4 drops of suitable wetting agent¹. The water blanks are then ready for sterilization.

4.2 Plugs

Nonabsorbent cotton or other suitable closures.

4.3 Flaming equipment

Depending upon the circumstances, an alcohol lamp or a Bunsen burner may be used to flame the inoculating needle and the mouths of sterile containers.

4.4 Containers

Erlenmeyer flasks, 250 mL, or bottles are convenient containers for sterile media, Mason jar 974 mL.

4.5 Incubator

Capable of maintaining a temperature of $(28 \pm 1) ^\circ\text{C}$ to provide proper incubation of the inoculum and for the inoculated specimens.

4.6 Inoculating needle

Sterile, either disposable or a standard inoculating needle fitted with either 22- or 24-gauge nickel-chromium or platinum wire.

4.7 Test tubes

18 by 150 mm rimless bacteriological test tubes are used for growing the test organisms.

4.8 Nutrient media, Two kinds are needed:

4.8.1 Potato-dextrose agar.

This medium is used to maintain the test organisms in stock and to grow the test organism for the inoculum. This standard medium can be obtained from many biological supply houses (pH of 5.6 ± 0.2).

¹Names of suppliers of testing equipment and materials for this method may be found on the Test Equipment Suppliers list in the bound set of TAPPI Test Methods, or may be available from the TAPPI Technical Operations Department.

4.8.2 Medium padat garam mineral (MSA)

Medium ini digunakan sebagai penyedia kebutuhan nutrisi yang diperlukan oleh organisme uji. Komposisi medium uji adalah sebagai berikut : (pH medium harus 7,2)

Amonium nitrat (NH_4NO_3)	3,0 g
Kalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4)	1,4 g
Kalium klorida (KCl)	0,25 g
Magnesium sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,25 g
Agar	10,0 - 20,0 g
Air	1 000,0 mL

4.8.3 Larutkan semua bahan dalam labu erlenmeyer, kemudian panaskan. Setelah itu, masukkan 10 mL medium PDA ke dalam beberapa tabung reaksi kemudian tutup dengan kapas lemak atau penutup tabung lainnya. Untuk medium MSA, masukkan ke dalam labu erlenmeyer dan tutup dengan kapas lemak. Bila dimasukkan ke dalam beberapa botol, tutup dengan tutup botol berulir. Medium kultur siap untuk disterilisasi.

CATATAN 1 Medium padat garam mineral dapat dimodifikasi dengan menambahkan 0,5% dekstrosa, kebutuhan gula ini penting untuk kebutuhan nutrisi organisme uji. Bila dilakukan modifikasi pada medium padat garam mineral harus dilaporkan.

4.8.4 Medium padat agar ekstrak malt, tepung gandum juga dapat digunakan untuk menumbuhkan isolat jamur.

4.9 Cawan petri

Cawan petri steril, berukuran 100 mm x 15 mm atau lebih besar.

4.10 Pipet seukuran

Pipet Mohr berukuran 5 mL dan 10 mL dengan ujung pipet yang telah dipotong dan dibakar sehingga berdiameter 3 mm, digunakan untuk mengambil inokulum spora miselium dan untuk mengukur volume medium kultur yang ditambahkan ke dalam setiap cawan petri. pipet Kolmer dan pipet sekali pakai yang telah disterilkan juga dapat digunakan.

4.11 **Gunting.** Jenis yang sesuai dengan tepi pemotongan kira-kira 100 mm.

4.12 Peralatan sterilisasi

Diperlukan dua jenis peralatan sterilisasi. Ukuran dan jenis yang digunakan tergantung dari kebutuhan masing-masing laboratorium. Kedua peralatan sterilisasi tersebut dilengkapi termometer untuk mengatur suhu bagian dalam alat selama sterilisasi.

4.12.1 Autoklaf untuk sterilisasi uap

4.12.2 Oven elektrik suhu 165 °C yang dilengkapi termometer, untuk sterilisasi peralatan.

4.13 Penghitung koloni, kaca pembesar, hemasitometer

Penghitung koloni standar untuk bakteri sangat membantu tetapi tidak diperlukan untuk mengetahui pertumbuhan jamur pada contoh uji.

4.14 Pisau atau spatula steril, batang gelas berbentuk L

4.8.2 Mineral-salt agar. This medium is used in the test to provide a portion of the nutrient requirements of the test organisms. Its composition is as follows: (pH should be 7.2)

Ammonium nitrate (NH_4NO_3)	3.0 g
Dipotassium phosphate (K_2HPO_4)	1.4 g
Potassium chloride (KCl)	0.25 g
Magnesium sulfate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.25 g
Agar	10.0 g – 20.0 g
Tap water	1 000.0 mL

4.8.3 After the ingredients are dissolved, the hot mixture is dispensed into appropriate containers. For the medium described in 4.8.1, approximately 10 mL of the mixture are dispensed into each test tube, and then the tube is plugged with cotton or other suitable closure. For the medium described in 4.8.2, the mixture may be dispensed into either Erlenmeyer flasks or bottles and plugged with cotton, or the bottles may be capped with suitable screw caps. The culture media are then ready to be sterilized.

NOTE 1 The mineral-salt agar may be modified by adding 0.5% of dextrose, provided this sugar is necessary to fulfill the nutritive requirements of the test organisms. The use of this modified mineral-salt agar must be stated in the report.

4.8.4 Malt extract agar can also be used to grow mold isolates.

4.9 Petri dishes

Disposable sterile petri dishes (DIFCO 112-17-6), 100 mm × 15 mm or larger.

4.10 Pipets

Graduated 5 mL or 10 mL Mohr pipets, with the tips cut off and fire-polished to give an opening about 3 mm in diameter at the delivery end, are best for pipetting the spore-mycelial inoculum and for measuring the volume of culture medium added to each petri dish. The Kolmer pipet is also satisfactory, alternatively, presterilized disposable pipets may be used.

4.11 Scissors. A satisfactory type has approximately 100-mm cutting edges.

4.12 Sterilizing equipment

Two types are needed, the particular style and size depending upon the needs of each laboratory. In both cases, thermometers are used to determine the inside temperatures during sterilization.

4.13 Colony counters, magnifying lens, hemacytometer

A standard bacterial colony counters or a large magnifying lens is helpful but not required for the examination of fungus growth on the test specimen.

4.14 Sterile knife or spatula, glass rod bent into the shape of an L

5 Sterilisasi peralatan dan medium

5.1 Berdasarkan jenis peralatan yang akan disterilkan, gunakan salah satu dari tiga metode sterilisasi berikut ini:

5.1.1 Sterilisasi uap (autoklaf)

Alat ini digunakan untuk sterilisasi medium kultur dan air blanko. Sterilisasi dilakukan pada suhu minimum 121 °C selama 20 menit, sebanding dengan 103,4 kPa (15 psi). Setelah bahan-bahan dimasukkan ke dalam autoklaf, diperlukan waktu sekitar 5 menit bagi uap untuk menggantikan seluruh udara yang terdapat dalam autoklaf kemudian disterilkan selama 15 menit.

5.1.2 Sterilisasi panas kering (oven elektrik)

Sterilkan pipet-pipet dengan pemanasan dalam wadah logam selama kurang lebih dua jam pada suhu 165 °C.

5.1.3 Pembakaran

Sterilkan jarum inokulasi dengan api sampai jarum berwarna merah. Jarum panas tersebut kemudian didinginkan dengan cara menempelkan jarum pada agar yang akan digunakan untuk mengkoloni inokulum.

6 Organisme uji

CATATAN 1 *Chaetomium globosum* sebaiknya ditumbuhkan pada medium padat garam mineral yang di atasnya diletakkan lembaran kertas saring sehingga kebutuhan nutrisi selulosa dapat terpenuhi.

Jamur yang direkomendasikan sebagai organisme standar untuk uji ini adalah: *Chaetomium globosum*, *Aspergillus niger* dan *Aspergillus terreus*. *Trichoderma viride* juga dapat digunakan sebagai organisme uji.

Beberapa jenis jamur lain juga dapat digunakan, yaitu jamur-jamur yang diisolasi dari produk kertas gagal (*broke*). Sebelum organisme uji yang diisolasi ini diinokulasikan pada contoh uji, perlu dilakukan penambahan dekstrosa pada medium padat garam mineral. Kultur murni disimpan pada refrigerator.

7 Penyiapan inokulum

CATATAN 2 Gunakan selalu kultur murni.

7.1 Metode spora miselium

7.1.1 Lakukan inokulasi pada dua tabung medium PDA miring dengan setiap organisme uji yang digunakan, kemudian inkubasi selama 14 hari pada suhu 28 °C. Pada akhir masa inkubasi, lakukan pengecekan apakah seluruh permukaan medium sudah ditutupi miselium dan spora.

5 Sterilization of equipment and media

5.1 Depending upon the nature of the equipment to be sterilized, use one of the three following methods:

5.1.1 *Steam sterilization* (autoclave).

Sterilize the following by autoclaving for 20 min at a minimum of 121°C, corresponding to 103.4 kPa (15 psi): (a) culture media; (b) water blanks. After placing items in autoclave, sufficient time (5 min) should be allowed for steam to completely replace the air in autoclave; then sterilize for an additional 15 min. Include a biological or chemical indicator strip to evaluate autoclave performance.

5.1.2 *Dry heat sterilization* (electric oven).

Sterilize the pipets by heating in a closed metal container for at least 2 h at 165°C.

5.1.3 *Flaming*.

Sterilize the inoculating needle in an open flame until it becomes red hot. The hot needle is cooled by jabbing it into the agar slant from which the inoculum is to be collected.

6 Test organisms

NOTE 1 *Chaetomium globosum* ATCC 6205 should be grown on mineral salts agar with filter paper added to the medium in order to supply the nutritional requirement of cellulose.

The fungi recommended as standard organisms for this test are: *Chaetomium globosum* ATCC 6205, *Aspergillus niger* ATCC 6275, and *Aspergillus terreus* ATCC 10690. [ATCC is the American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852; 1-800-638-6597] *Trichoderma viride* ATCC 32630 may also be included as a test organism.

Other species of fungi may be included in the test; these may be species of fungi which have been isolated from paper products which have failed under certain use conditions. These additional test organisms may require the addition of dextrose to the nutrient salt agar before they will grow on test specimens. Stock cultures may be stored in the refrigerator.

7 Preparation of inoculum

NOTE 2 Always confirm a pure isolate is used.

7.1 *Spore-mycelia method*.

7.1.1 Inoculate two potato-dextrose agar slants with each organism to be used in the test and incubate for 14 days at 28°C. At the end of this incubation period check to see that each agar slant is covered with mycelium and spores.

Ke dalam setiap agar miring yang telah tertutup miselium dan spora, tambahkan 5 mL air steril dan buat suspensi jamur dengan cara menggesek permukaan medium yang ditumbuhi jamur dengan jarum inokulasi steril. Ulangi langkah ini untuk semua organisme uji yang digunakan. Masukkan suspensi jamur dari masing-masing jenis ke dalam erlenmeyer berisi air blanko. Aduk suspensi spora-miselium jamur untuk menghancurkan gumpalan-gumpalan spora dan miselium. Hitung jumlah spora dengan menggunakan hemasitometer. Inokulum dapat digunakan untuk pengujian, bila jumlah spora jamur konsisten sekitar 100 spora per mL.

7.2 Metode *Spore-cloud*

7.2.1 Jika diperlukan, metode penyiapan inokulum ini dapat mensubstitusi metode spora miselium. Cara penyiapan inokulum adalah sebagai berikut :

- Campurkan 30 g tepung gandum dengan 30 mL HCl 0,1 N dan lakukan sterilisasi dalam tabung Mason 974 mL (1 qt) yang tidak tertutup rapat selama 30 menit pada 103 kPa (15 psi).
- Siapkan suspensi spora-miselium organisme uji yang tumbuh pada agar miring *potato-dextrose* dengan cara mencuci permukaan agar miring dengan 10 mL air steril. Jika diperlukan, lepaskan spora dan miselium dengan jarum inokulasi steril.
- Inokulasikan tepung gandum steril dengan 10 mL suspensi spora-miselium organisme uji

7.2.2 Untuk memaksimalkan luas permukaan, sebarkan tepung yang telah diinokulasi pada tabung Mason dan inkubasi dalam posisi miring pada suhu 28 °C. Setelah diinkubasi selama 48 jam, jamur akan tumbuh dengan cepat. Kemudian gesek jamur yang tumbuh menjadi gumpalan-gumpalan kecil dengan pisau atau spatula secara steril. Setelah sporulasi, sebarkan tepung tersebut pada wadah tertutup dan biarkan kering. Tutup rapat wadah tersebut dan simpan pada suhu ruang. Inokulasi sebaiknya dilakukan setiap enam bulan.

8 Pengambilan contoh dan contoh uji

CATATAN 3 Disarankan untuk melakukan pengambilan contoh dan pengujian pada *laminar air flow* atau *biological safety cabinet*.

Pengambilan contoh uji kertas dilakukan berdasarkan metode TAPPI T 400 "*Sampling and Accepting a Single Lot of Paper, Paperboard, Containerboard or Related product*". Persiapan contoh uji dilakukan sebagai berikut :

- ambil secara steril bahan uji ukuran 50 mm persegi secara acak. Jumlah contoh yang diambil disesuaikan dengan jumlah organisme uji yang akan digunakan.
- Untuk kertas yang ringan, gramatur 19,5 g/m² atau kurang (setara dengan 12 lb atau kurang, 24 x 36-500), gunakan dua lembar kertas sebagai satu contoh uji.

Gunakan kontrol untuk setiap rangkaian uji. Kontrol yang digunakan harus identik dengan contoh uji yang digunakan dalam pengujian. Pengujian diulang tiga kali dengan menggunakan paling sedikit tiga organisme uji yang berbeda dan tentukan sifat *fungistatic* dari kedua sisi contoh uji.

7.1.2 To each agar slant add 5 mL of sterile water and suspend the surface growth in the liquid by gently scraping the surface of the slant with a sterile inoculating needle. Repeat this procedure for each organism used in the test. Pool the suspension from each set of two slants in the water blank from which the water was removed. Shake the spore-mycelial suspension thoroughly to break the spore and mycelial clumps. A hemacytometer may be used for counting the spore number. Begin the test with a consistent number of spores – approximately 10^2 is recommended.

7.2 *Spore-cloud method.*

7.2.1 If desired, this method of preparing the inoculum may be substituted for the spore-mycelial method.

- Thoroughly mix 30 g of wheat bran with an equal weight of 0.1N HCl and sterilize in a loosely capped 947-mL (1-qt) Mason jar for 30 min at 103 kPa (15 psi).
- Prepare the suspension by washing the surface of the slant with 10 mL of sterile water. If necessary, loosen the spores and mycelium with a sterile inoculating needle.
- Inoculate the cooled sterilized bran by intimate mixing with 10 mL of a spore-mycelial suspension of the test organism which has been grown on a potato-dextrose agar slant.

7.2.2 To maximize optimum surface area, spread out the inoculated bran in the Mason jar, which is set on its side, and incubate in this position at 28°C. After about 48 h of incubation the fungus will have grown rapidly through the bran. Then, using aseptic techniques break the mat which has formed into small clumps with a sterile knife or spatula and incubate until the fungus has sporulated throughout the bran. After sporulation, spread the bran in the closed container and allow to dry. Tightly stopper the dried bran tightly and store at room temperature. It is recommended that the inoculated bran be prepared every 6 months

8 Sampling and test specimens

NOTE 3 It is recommended that sampling and testing will be conducted under a laminar air flow (LAF) hood or a biological safety cabinet.

Select the samples to be tested in accordance with procedures outlined in TAPPI T 400 "Sampling and Accepting a Single Lot of Paper, Paperboard, Containerboard or Related Product."

From these samples aseptically remove test specimens (preferably under a LAF hood or biological safety cabinet), 50-mm squares at random from the sample, the number of squares cut being governed by the number of test organisms used in the test.

Test each sample in triplicate with at least three different test organisms and determine the fungistatic properties of both sides of the test specimen. For lightweight papers [weight per unit area 19.5 g/m² or less (12 lb or less, 24 × 36 -500)], treat two plies of the paper as a single test specimen.

However, the use requirements should dictate the number of plies used in the test. Always include suitable untreated controls in each series of tests. The control specimen should be identical to the test specimens, except for the absence of the preservative. If this is not possible, untreated paper similar to the treated specimens should be used as the control.

9 Prosedur uji

CATATAN 4 Selalu gunakan kontrol contoh uji tanpa perlakuan (tanpa sterilisasi, tanpa inokulum) untuk setiap pengujian.

9.1 Tuangkan medium padat garam mineral steril yang telah dicairkan ke sejumlah cawan petri (satu petri untuk setiap contoh uji). Jumlah medium yang dituangkan ke dalam cawan petri disesuaikan dengan ketebalan kertas uji yang digunakan. Untuk contoh uji kertas dan karton yang memiliki ketebalan di atas 0,43 mm gunakan 15 mL medium, sedangkan untuk kertas karton yang memiliki ketebalan 0,45 mm – 1,65 mm gunakan 25 mL medium. Setelah medium mengeras, lakukan inokulasi contoh uji dengan menggunakan salah satu metode berikut.

9.1.1 Metode spora-miselium

Setelah medium pada cawan petri mengeras, letakkan satu lembar contoh uji berukuran 50 mm persegi pada permukaan medium. Lakukan pula hal tersebut pada semua ulangan. Kemudian inokulasi setiap permukaan lembaran dengan 1,0 mL suspensi spora-miselium organisme uji. Distribusikan inokulum dengan menggunakan batang gelas berbentuk L. Lakukan juga inokulasi pada kontrol contoh uji.

9.1.2 Metode *Spore-cloud*

Metode ini sebaiknya dilakukan pada wadah yang tertutup yang terbuat dari plastik transparan. Gunakan botol steril yang berbeda untuk masing-masing inokulum dari organisme yang berbeda. Tempatkan botol berisi inokulum tepung gandum dalam botol steril, kocok dan inokulasi contoh uji dengan mensuspensikan inokulum tersebut pada mulut botol. Hasil dari metode ini adalah tepung gandum akan ditumbuhi oleh spora. Setelah inokulasi, tempatkan contoh uji pada permukaan medium padat garam mineral.

10 Inkubasi

Lakukan inkubasi contoh uji yang telah diinokulasi pada suhu $(28 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama 21 hari, sebaiknya pada lingkungan yang lembab. Ketahanan kertas terhadap jamur ditentukan berdasarkan pengamatan visual. Amati contoh uji beberapa kali untuk setiap minggunya untuk mengetahui pertumbuhan organisme uji atau jamur lainnya.

11 Laporan hasil uji

Jika pada contoh uji menunjukkan pertumbuhan salah satu organisme uji setelah inkubasi selama 7 hari, hentikan pengujian dan laporkan bahwa contoh uji tidak tahan jamur. Jika tidak terjadi pertumbuhan pada contoh uji, lakukan inkubasi sampai 21 hari. Jika contoh uji tidak mendukung pertumbuhan selama periode minggu pertama dan hanya terjadi sedikit pertumbuhan setelah 2 minggu, laporkan bahwa contoh uji cukup tahan jamur. Jika tidak terjadi pertumbuhan organisme uji dan atau jenis jamur lainnya pada contoh uji setelah 3 minggu, laporkan bahwa contoh uji tahan terhadap jamur. Laporkan bila terjadi pertumbuhan jamur selain organisme uji.

Untuk kertas bersalut, pertumbuhan tidak akan terjadi pada permukaan kertas uji tapi mungkin akan terlihat pada sisi-sisi kertas salut. Uji seperti itu cukup memuaskan untuk kertas bersalut tetapi tidak untuk contoh uji yang lengkap. Laporan uji sebaiknya mencantumkan nama organisme uji, metode inokulasi dan berapa lama contoh uji diinkubasi.

9 Test procedure

NOTE 4 Always use a “control,” untreated sample for each test.

9.1 Pour cooled or remelted sterilized mineral-salt agar into the required number of Petri dishes (one dish for each test specimen). The amount of agar dispensed into each dish is dependent upon the thickness of the paper under test. For testing paper and paperboard up to 0.43 mm thick, measure 15 mL of the mineral-salt agar into each dish; for paperboard 0.46-1.65 mm thick, use 25 mL. After the mineral-salt agar has solidified, inoculate the test specimens with the test organisms according to one of the following methods.

9.1.1 *Spore-mycelial method.*

After the nutrient salt agar has solidified in the dish, place one of the 50-mm square test specimens on the surface of the agar. After the replicates for each treatment have been placed on the hardened mineral-salt agar, inoculate each square with one of the test organisms by distributing 1.0 mL of the prepared spore-mycelial suspension over the surface of each test specimen. The distribution of the inoculum can be facilitated with the use of a sterile glass rod bent into the shape of an L. Also inoculate suitable untreated control specimens with test organisms.

9.1.2 *Spore-cloud method.*

The method is best carried out in an enclosed chamber constructed of transparent plastic. A clean chamber should be used for inoculums involving different organisms. Two round openings should be provided to allow the technician to work with hands and forearms in the chamber. Place the jar containing the wheat-bran inoculum in the chamber, shake, and inoculate the test specimens by suspending them momentarily in the mouth of the jar.

10 Incubation

Incubate the petri dishes containing the inoculated test specimens for a period of 21 days at $(28 \pm 1) ^\circ\text{C}$, preferably in a humid atmosphere. The resistance to fungal growth is determined by visual examination. Examine the test specimens several times during each week of incubation for the growth of the test organisms or other fungi.

11 Report

If the test specimens show growth of any of the test organisms after 7 days incubation, discontinue the test and report the sample as not fungus-resistant. If growth is not observed on the test specimens, incubate for up to 21 days. If the sample then supports the growth of any of the test fungi, report it as unsatisfactory or not fungus-resistant. If the specimens do not support growth during the first week of incubation and only sparse growth after 2 weeks, report the sample as moderately fungus-resistant. If there is no growth of the test organisms and/or other species of fungi on the specimens after 3 weeks, report the sample as fungus resistant. However, the growth of fungi other than the test organisms shall always be reported.

In the case of a coated paper sample, growth may not be observed on the surface of the test specimens but may be quite prolific along the cut edges. Such tests will be considered as satisfactory for coating but not for the complete specimen. The report shall include the names of the test organisms, the method of inoculation, and the number of days the test specimens were incubated.

CATATAN 5 Jika contoh kontrol tidak menunjukkan pertumbuhan, contoh uji sebaiknya dievaluasi lebih jauh untuk mengetahui sifat dari anti jamur yang digunakan.

12 Ketelitian

12.1 Metode uji ini bisa diulang sejalan dengan ada atau tidaknya pertumbuhan dalam periode tiga minggu. Ripitabilitas tidak diperlukan jika lembaran kertas tahan terhadap jamur.

12.2 Agar uji ini valid secara statistik, pengujian sebaiknya dilakukan dengan tiga kali ulangan terhadap lembaran kertas atau karton dari contoh uji yang sama menggunakan organisme dan jumlah inokulum yang sama.

12.3 Karena hasil uji yang subjektif, pernyataan ripitabilitas atau reproduisibilitas seperti yang didefinisikan oleh TAPPI T 1206 tidak sesuai dengan metode ini.

13 Kata Kunci

Kertas, karton, jamur



NOTE 5 If “control” sample does not show growth, the sample should be further evaluated in order to determine any “natural” antifungal properties.

12 Precision

12.1 This test method is repeatable as to the presence of growth or lack of growth within the three week period. Repeatability is not expected relative to the amount (quantity) of growth that may occur if the sheet is fungus-resistant.

12.2 In order to make this test statistically valid it should be run in triplicate on pieces of paper or paperboard from the same sample using the same organisms and level of inoculum

12.3 Because of the subjective nature of the results, a repeatability or reproducibility statement as defined by TAPPI T 1206 is not applicable for this method.

13 Keywords

Paper, Paperboard, Fungi



Lampiran A
(informatif)

Daftar deviasi teknis dan penjelasannya

Tabel A.1 - Daftar deviasi teknis dan penjelasannya

No	Pasal/Subpasal dalam SNI	Modifikasi dalam SNI	Penjelasan
1	4 Alat dan bahan	Penambahan jenis alat	Pada TAPPI 487 pm-99, tidak ada subpasal 4.14. Pada SNI ini ditambahkan subpasal 4.14 yang mencantumkan alat pisau atau spatula steril, batang gelas berbentuk L yang digunakan untuk melakukan prosedur cara uji ini.
2	4.4 Kontainer	Penambahan jenis kontainer	Pada TAPPI 487 pm-99, tidak disebutkan jenis kontainer yang spesifik. Pada SNI ini jenis kontainer disebutkan yaitu tabung Mason 974 mL agar lebih jelas dan spesifik.
3	4.8.2 Medium padat garam mineral (MSA)	Perubahan jumlah agar yang ditambahkan pada komposisi medium uji.	Pada TAPPI 487 pm-99, penambahan jumlah agar ke dalam medium padat MSA adalah 10,0 g. Pada SNI ini jumlah agar yang ditambahkan menjadi 10,0 g – 20,0 g, tujuannya untuk memperoleh medium yang cukup padat dan tidak mudah hancur saat digunakan.
4	4.8.4	Penambahan alternatif untuk medium padat agar	Pada TAPPI 487 pm-99, tidak dicantumkan tepung gandum sebagai medium padat agar. Pada SNI, tepung gandum ditambahkan karena dapat juga menumbuhkan isolat jamur.
5	4.13 Penghitung koloni, kaca pembesar, hemasitometer	Penambahan jenis alat	Pada TAPPI 487 pm-99 tidak ada alat kaca pembesar dan hemasitometer Pada SNI poin 4.13 ditambahkan alat kaca pembesar dan hemasitometer karena digunakan untuk menghitung koloni.
6	6 Organisme uji	Penghilangan kode spesifik jamur yang digunakan "ATCC 6205", Chaetomium globosum "ATCC 6275", Aspergillus niger "ATCC 10690" Aspergillus terreus. "ATCC 32630" Trichoderma viride. (ATCC adalah American Type Culture Collection, 12301 Parklawn, Drive Rockville, MD 20852; 1-800-638-6597),.	Penghilangan kode spesifik tersebut bertujuan untuk menyesuaikan dengan spesies jamur yang tersedia dan dikoleksi oleh beberapa laboratorium Mikrobiologi di Indonesia.
7	7.2.1 Metode Spore-cloud	Perubahan urutan penulisan	Pada SNI poin 7.2.1, ditulis sesuai urutan kegiatan penyiapan inokulum yaitu penyiapan medium tepung, penyiapan suspensi spore misellium dan inokulasi tepung.

Appendix A (informative)

List the technical deviation and its clarification

Table A.1 - List the technical deviation and its clarification

No	Article/Sub article in SNI	Modify in SNI	Clarification
1	4. Apparatus and materials	Addition of appliance type	At TAPPI 487 pm-99, there no sub article 4.14. At this SNI is enhanced by sub article 4.14 which include of sterile knife or sterile spatula, glass bar in form of L used to conduct the procedure of this test.
2	4.4 Containers	Addition of containers type	At TAPPI 487 pm-99, is not mentioned a specific container type. At this SNI is container type mentioned that is Mason tube 974 mL, so that specific and clearer.
3	4.8.2 Mineral salt Agar (MSA)	Change sum agar to enhanced at test medium composition.	At TAPPI 487 pm-99, agar sum addition into MSA solid medium is 10,0 g. At this SNI, agar sum addition become 10,0 g - 20,0 g, its target to obtain get the medium which solid enough and do not easy to destroyed at the moment used..
4	4.8.4 Malt Extract Agar	Alternative addtion for agar solid medium.	At TAPPI 487 pm-99, is not mentioned flour as agar solid medium. At SNI , flour powder enhanced, because the fungi isolate can also grow at these medium.
5	4.13 colony counter, hemacytometer, magnifier	Addition of appliance type	At TAPPI 487 pm-99, there no appliance of magnifier and hemacytometer At SNI point 4.13, enhanced by appliance of magnifier and hemacytometer for used to colony count
6	6 test organisms	Specific code abolition of used fungi : "ATCC 6205",Chaetomium globosum", ATCC 6275", Aspergillus niger" ATCC 10690 "Aspergillus terreus. " ATCC 32630 "Trichoderma viride. (ATCC is American Type Culture Collection, 12301 Parklawn, Drive Rockville, MD 20852; 1-800-638-6597),.ville, MD 20852; 1-800-638-6597),..	The specific Code abolition , head for to adaptation to the available fungi species and collected by some Microbiological laboratory in Indonesia.
7	7.2.1. Spore-cloud method	Change of writing arrangement.	At SNI point 7.2.1, written by in sequence activity of inoculum preparation that is preparation of flour medium, preparation of spore mycellial suspension and flour inoculation.

Bibliografi

1. Cruickshank, G.A., "Evaluation of Mold-Resisting Treatment of Paper and Paperboard," *Tappi* **32** (8): 370 (1949).
2. Shema, B.F., 'Methods of Evaluating the Fungicidal Properties of Treated Paper and Paperboard,' *Paper Trade J.* **123** (24): 137; *T.S.* **179-180** (Dec. 5, 1946).
3. Vinson, L.J., "Lever Spore Cloud Method for the Evaluation of Antimycotic Properties of Paper and Paperboard, *Tappi* **36** (5): 234 (1953).
4. ASTM E 599-89: "Standard Test Method for Efficacy of Slimicides for the Paper Industry-Fungal Slime."
5. ASTM E 600-91: "Standard Test Method for Efficacy of Slimicides for the Paper Industry-Bacterial Slime."
6. ASTM E 723-91: "Standard Test Method for Efficacy of Antimicrobials as Preservatives for Aqueous-Based Products Used in the Paper Industry (Bacterial Spoilage)."
7. ASTM E 723-91: "Standard Test Method for Efficacy of Antimicrobials as Preservatives for Aqueous-Based Products Used in the Paper Industry (Bacterial Spoilage)."
8. ASTM E 875-94: "Standard Test Method for Efficacy of Fungal Control Agents as Preservatives for Aqueous-Based Products Used in the Paper Industry."
9. Onions, A., Allsopp, D., Eggins, H., "Smith's Introduction to Industrial Mycology, 7th ed., *John Hiley*, New York, 1981.
10. Block, S., "Disinfection, Sterilization, and Preservation," *Lea and Febiger*, Phila., 1991.

Bibliography

1. Cruickshank, G.A., "Evaluation of Mold-Resisting Treatment of Paper and Paperboard," *Tappi* **32** (8): 370 (1949).
2. Shema, B.F., 'Methods of Evaluating the Fungicidal Properties of Treated Paper and Paperboard," *Paper Trade J.* **123** (24): 137; *T.S.* **179-180** (Dec. 5, 1946).
3. Vinson, L.J., "Lever Spore Cloud Method for the Evaluation of Antimycotic Properties of Paper and Paperboard, *Tappi* **36** (5): 234 (1953).
4. ASTM E 599-89: "Standard Test Method for Efficacy of Slimicides for the Paper Industry-Fungal Slime."
5. ASTM E 600-91: "Standard Test Method for Efficacy of Slimicides for the Paper Industry-Bacterial Slime."
6. ASTM E 723-91: "Standard Test Method for Efficacy of Antimicrobials as Preservatives for Aqueous-Based Products Used in the Paper Industry (Bacterial Spoilage)."
7. ASTM E 723-91: "Standard Test Method for Efficacy of Antimicrobials as Preservatives for Aqueous-Based Products Used in the Paper Industry (Bacterial Spoilage)."
8. ASTM E 875-94: "Standard Test Method for Efficacy of Fungal Control Agents as Preservatives for Aqueous-Based Products Used in the Paper Industry."
9. Onions, A., Allsopp, D., Eggins, H., "Smith's Introduction to Industrial Mycology, 7th ed., *John Hiley*, New York, 1981.
10. Block, S., "Disinfection, Sterilization, and Preservation," *Lea and Febiger*, Phila., 1991.









BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3,4,7,10
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id